

(19)



JAPANESE PATENT OFFICE

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number: 2000146782 A

(43) Date of publication of application: 26.05.2000

(51) Int. Cl. G01N 1/28
C12M 3/00, G01N 1/10

(21) Application number: 10336480
(22) Date of filing: 12.11.1998

(71) Applicant: KAWAI YOSHIO
(72) Inventor: SHIINA YOSHIO
IJIMA JUNKO
OKAWATO MITSUAKI
SAKUMA KANAE
KAWAI YOSHIO

(54) APPARATUS AND METHOD FOR
PREPARATION OF AUTOMATICALLY FIXED
SAMPLE

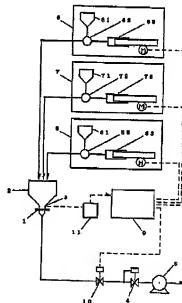
start button, an immobilized cell sample is obtained on the filter 1 after about 20 minutes.

COPYRIGHT: (C)2000,JPO

(57) Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain an apparatus and a method in which a high quality microscope sample for cell diagnosis is prepared from a cell suspension with high reproducibility and without manual intervention.

SOLUTION: According to the presence or absence of continuity of an electrode 3, a level sensor 11 is turned on or off. The downstream side of a filter 1 is sucked by a vacuum pump 5 via a solenoid valve 10 and a constant pressure device 4. When the end point of a filtering operation is judged, the level sensor 11 is turned off, and the solenoid valve 10 is closed as so to stop the suction operation. A cleaning-liquid supply system 6, a first fixing-liquid supply system 7 and a second fixing-liquid supply system 8 are composed of tanks 61, 71, 81, of three-way selector valves 62, 72, 82 and of a syringe-type pump which is driven by a motor. By this constitution, under the control of a sequencer 9, an operator charges a sample in a prescribed amount into a sample container 2. By a simple depression of a



(43)公開日 平成12年5月26日(2000.5.26)

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	データベース ⁸ (参考)
G 0 1 N	1/28	G 0 1 N	1/28 J 4 B 0 2 9
C 1 2 M	3/00	C 1 2 M	3/00 Z
G 0 1 N	1/10	G 0 1 N	1/10 B
			1/28 F
			U

審査請求 未請求 請求項の数2 FD (全 5 頁)

(21) 出願番号	特願平10-336480	(71) 出願人	598163280 河合 義雄 東京都武蔵野市吉祥寺東町3-12-10
(22) 出願日	平成10年11月12日 (1998. 11. 12)	(72) 発明者	椎名 義雄 東京都八王子市元八王子町1-538-1
		(72) 発明者	飯島 淳子 東京都小金井市前原町5-2-48
		(72) 発明者	大河戸 光章 埼玉県浦和市別所7-17-30 S S ハイツ 105
		(72) 発明者	佐久間 香苗 神奈川県鎌倉市大船4-16-5 ラプラス 大船203

最終頁に続く

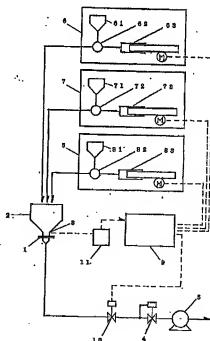
[最終頁に続く](#)

(54)【発明の名称】 自動固定標本作製装置および方法

(57) 【要約】

【課題】細胞懸濁液から質の良い細胞診断用顕微鏡試料を再現性良く人手をかけないで製作する。

【解決手段】細胞懸濁液の濾過を一定の圧力の元に行うことにより、細胞の変形を防止する。濾過の終了時点を電気的に検出し、すぐに洗浄液を自動的に投入する事により、細胞の乾燥による劣化を防止する。フィルター上に捕集された細胞を洗浄を行うことによって夾雑物を除きやすい細胞診標本を作る。一連の操作をシーケンサーにより自動化し操作条件を同一にすることにより再現性の良い標本が得られる。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 生体試料からなる細胞浮遊液を濾過して細胞を捕集し細胞診断用プレパラートを作成する一連の操作の前半の部分、具体的には細胞浮遊液から細胞を濾過捕集しフィルター上で細胞の固定を行うところまでの操作、を自動的に行うための装置であり、一定の吸引圧力による細胞浮遊液の吸引濾過、濾過終了を自動的に判定して吸引停止と所定量の洗浄液の自動投入、洗浄液の濾過終了を自動的に判定しての所定量の第一固定液の自動投入と第一固定化反応時間の管理、及び必要に応じて第二固定液の自動投入と第二固定化反応時間の管理を自動的に行い、フィルター上に細胞を変性させることなく捕集し固定することと特徴とする自動固定標本作製装置。

【請求項2】 生体試料からなる細胞浮遊液を濾過して細胞を捕集し細胞診断用プレパラートを作成する一連の操作の前半の部分、具体的には細胞浮遊液から細胞を濾過捕集しフィルター上で細胞の固定を行うところまでの操作、に於いて、細胞浮遊液を濾過した後にフィルター上に残った細胞を生理的洗浄液、例えば生理食塩水、磷酸バッファ、1% BSA含有生理食塩水等、で洗浄し付着粒子等を除去すること、及び濾過が終了した直後に生理的洗浄液を添加し、空気を吸引する事により細胞が乾燥変質する事を防止することと特徴とする細胞診断用プレパラート作成前処理方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術】細胞を含む懸濁液、特に液状生体試料中から細胞を濾過捕集するに当たって、その細胞を純粋な形で、しかも変性させることなく捕集する必要がある場合に利用される。具体的には、尿中又は体く液等の液状検体に含まれる細胞の捕集、穿刺吸引物を生理食塩水に分散させた試料からの細胞の捕集等に利用される。

【0002】

【従来の技術】細胞懸濁液から細胞を濾過捕集する事は従来から行われていたが、殆どは手動で吸引が行われ、濾過の終了時点を目視で判断していた。このため吸引終了時点の判断にはばらつきがあり、吸引過度で細胞がフィルターに食い込んだり、吸引不足で固定液が希釈される等の変動があり再現性が得られなかった。

【0003】全自動固定標本作製装置としては、商品名シンプレップ (ThinPrep) が販売されている。技術内容の詳細は不明であるが、本発明との相違点は、吸引を吸引速度一定で行っているため吸引圧力一定の保証がないこと、濾過終了を吸引圧力の変化に依って判定していること、及び生理的洗浄液による洗浄を行わないことにより、高価な装置であり処理に時間がかかることも多検体自動処理に向きである。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】課題の一つはきれいな顕微鏡観察のための試料が再現性良く得られること。二番目は人手の節約、特に経験を要しないで誰でも容易に良い試料が得られること。この2点が達成されれば標本作製の標準化が可能となり、細胞診断そのものの標準化が可能となる。

【0005】

【課題を解決するための手段】きれいな顕微鏡観察のための試料を作るには一つは洗浄が有効である。フィルターに残った夾雑物及び細胞の周囲に付いた微粒子を洗浄により除去する事によって、きれいな資料が得られ顕微鏡観察が容易になる。

【0006】二番目は適当な吸引圧力を測定し、一定に保つことが有効である。吸引圧力が大きすぎると細胞がフィルターにめり込んで変形し、形状が変化して診断に誤差が生じる。吸引速度一定では吸引圧力が一定になる保証がなく、早くフィルターに到着した細胞と後から到着したものとの間に変形の差が生じる可能性がある。

【0007】三番目は濾過終了の判定及び洗浄液、固定液の投入のタイミングが重要である。濾過終了の判定が遅いと空気を吸って細胞が乾燥し核の詳細な観察が不能となる。判定が早過ぎると、洗浄液の場合は問題は無いが、残留液成分による固定液の希釈が起こり固定反応の条件が十分満足されないため、細胞が部分的に固定されるのでフィルター上に塗抹された細胞が剥離しやすくなる。また、濾過終了の判定は良くて、洗浄液、固定液の投入タイミングが遅れるとそこに細胞の乾燥がおこり良好な試料が得られない。

【0008】以上述べたように質の良い細胞診断標本を再現性良く作るには人手による操作を極力排除し、自動化することが必要であり、また自動化によって省力化ははかれるとともに、未熟練者でも、良質の試料が作成できるようになる。標本作製の標準化に当たっては多数の試料を自動的に処理できる方式が必要となる。この点にも考慮を払っておくことが必要である。

【0009】濾過時には最適吸引圧力を一定に維持することによりフィルター上で細胞の変形を防止し、濾過終了時点に適切に判断し、洗浄液、固定液を注入する事によって細胞の乾燥による劣化を防止し、濾過終了後に洗浄液で洗浄する事によって細胞診断標本の夾雑物を無くして見やすくすることができる。一連の操作を自動化することにより、これらの操作条件を再現性良く実施し、高品質の細胞診断標本を再現性良く作成することができる。

【0010】

【発明の実施の形態】尿を濾過して尿中に含まれる癌細胞を捕集するための装置を図1に示す。他の目的の装置も操作条件が異なるので、本質的には同一の装置が使用される。この場合は血球を透過させ、癌細胞を捕集するためフィルター1の孔径は10ミクロン、直径12ミ

リメートルのものを使用した。尿サンプルは50mlをサンプル容器2に投入する。本サンプル容器は下部に2本の電極31、32を有し、32の下端の位置が濾過の終点判定にかかわる。この位置は実験により決定される。電極31、32間の導通の有無でレベルセンサー11がON/OFFする。フィルターの下流側は電磁弁10及び定圧装置4を経由して真空ポンプ5により吸引される。濾過の終点判定時にはレベルセンサー11のOFFで電磁弁10が閉となり吸引を停止する。6は洗浄液供給系、7、8は第一、第二固定液供給系を示す。これらはそれぞれタンク61、71、81、三方切り替え弁61、62、63、モーターで駆動されるシリンジタイプのポンプから成る。9はこれらを制御するシーケンサーを示す。

【0011】図2にサンプル容器2の詳細を示す。漏斗状のサンプル容器にアルミ管を接着して電極31、32とした。31はサンプル容器の下部まで、32の下端は31より少し上になるよう接着した。

【0012】図3にシーケンサーの流れを示す。作業者はサンプル容器2に所定量のサンプルを投入しスタートボタンを押すのみで、約20分後にはフィルター1上に固定された細胞の試料が得られる。この試料はすでに固定を終わっており、急いで次の工程（スライドガラスへの転写、染色工程、等）に進める必要はなく、ほかの作業が一段落した後に取り上げればよい。

【0013】本装置につき各種条件を変更して実験の結果、吸引圧力は水銀柱10mm以下、電極32の下端の位置はサンプル容器の下端より1mmが良く、洗浄液は生理食塩水、生理的燐酸バッファー（PBS）、1%BSAを含む生理食塩水等が好結果を示し、液量としては

5mlで良かった。第一固定液はエタノール95%水溶液0.5-2ml、15分間、第二固定液は2%カーボワックスを含むイソプロピルアルコール、メタノール混合水溶液0.5ml、反応時間2分間で好結果が得られた。

【0014】

【発明の効果】自動化により再現性良く良質の顕微鏡用試料が得られる。一定の圧力で濾過を行うことによりフィルターへの細胞の食い込み変形をなくす。濾過終了後に洗浄液による洗浄を行うことにより夾雑物のないきれいな試料が得られる。濾過終了時点を電氣的に判断して吸引を停止し洗浄液を注入することにより細胞の変形と劣化を防止し質の良い試料が得られる。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の装置の構成を示す。

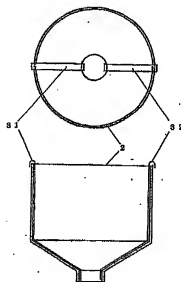
【図2】サンプル容器とそれに取り付けた電極を示す。

【図3】本装置の一直の操作の流れを示す。

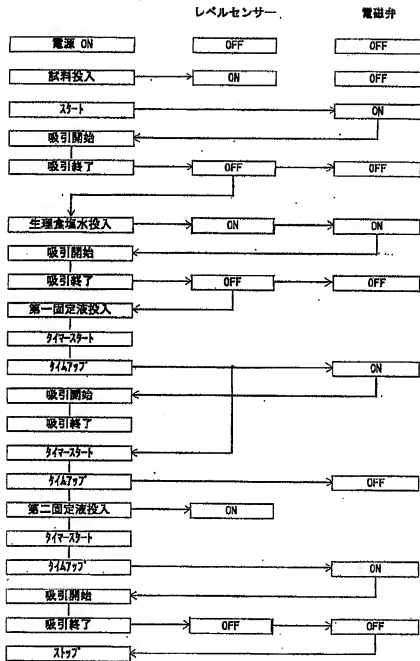
【符号の説明】

- | | |
|----|----------|
| 1 | フィルター |
| 20 | 2 サンプル容器 |
| 3 | 電極 |
| 4 | 定圧装置 |
| 5 | 真空ポンプ |
| 6 | 洗浄液供給系 |
| 7 | 第一固定液供給系 |
| 8 | 第二固定液供給系 |
| 9 | シーケンサー |
| 10 | 電磁弁 |
| 11 | レベルセンサー |

【図2】



【図3】



フロントページの続き

(72)発明者 河合 義雄

東京都武蔵野市吉祥寺東町3-12-10

Fターム(参考) 4B029 AA07 AA27 B301 B311 CC01

FA01 FA11 FA15